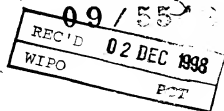


2098/06968

09/55 067

**PRIORITY
 DOCUMENT**
 SUBMITTED OR TRANSMITTED IN
 COMPLIANCE WITH RULE 17.1(a) OR (b)



Bescheinigung

Die Hoechst Marion Roussel Deutschland GmbH in Frankfurt am Main/Deutschland hat eine Patentanmeldung unter der Bezeichnung

"Antisense Oligonucleotide gegen Tenascin
 zur Behandlung von Vitiligo"

am 15. November 1997 beim Deutschen Patentamt eingereicht.

Das angeheftete Stück ist eine richtige und genaue Wiedergabe der ursprünglichen Unterlage dieser Patentanmeldung.

Die Anmeldung hat im Deutschen Patentamt vorläufig die Symbole C 07 H, A 61 K und C 12 N der Internationalen Patentklassifikation erhalten.

München, den 18. September 1998
 Der Präsident des Deutschen Patentamts
 Im Auftrag



Patenzahlen: 197 50 702.6

Antisense Oligonukleotide gegen Tenascin zur Behandlung von Vitiligo

Die Erfindung betrifft spezifische, gegebenenfalls modifizierte Oligonukleotide mit einer Länge von bis zu 18 Nukleotiden, die Abschnitten Tenascin-kodierender Sequenzen entsprechenden bzw. die an diese Sequenzen binden können, deren Herstellung sowie die Verwendung derselben, beispielsweise zur spezifischen Inhibition der Expression von Tenascin und zur Herstellung von Arzneimitteln, die zur Behandlung von Vitiligo verwendet werden können.

Unter Vitiligo wird ein erworbenes Fehlen von Melanozyten verstanden, wodurch hypopigmentierte Hautbereiche entstehen, die in der Regel scharf begrenzt und häufig symmetrisch angeordnet sind, einen oder zwei Flecke bilden oder fast die ganze Haut erfassen. Das Haar in hypopigmentierten Bezirken ist normalerweise weiß und erscheint auch im Wood-Licht weiß. Die betroffenen Hautstellen sind anfällig gegen Sonnenbrand. Die Ursache der Erkrankung ist unbekannt. Obwohl die Vitiligo als eine im Laufe des Lebens erworbene Krankheit gilt, findet sich gelegentlich eine familiäre Häufung (autosomal-dominant, mit inkompletter Penetranz und variabler Ausprägung). Sie kann auch einem ungewöhnlichen physischen Trauma, insbesondere einer Schädelverletzung, folgen. Die Assoziation von Vitiligo mit einem Morbus Addison, Diabetes mellitus, perniziöser Anämie oder Schilddrüsenfunktionsstörung wie auch das gehäufte Vorkommen von Antikörpern gegen Thyreoglobulin, Zellen der Nebenniere und Belegzellen des Magens im Serum haben dazu geführt, eine immunologische oder neurochemische Ursache zu vermuten. Antikörper gegen Melanin wurden bei einigen Patienten gefunden.

Alle verfügbaren Therapiemethoden führen nur bei einem Teil der Patienten zu befriedigenden Therapieerfolgen (F. Wach et al., H+G 71 (1996) 206). Zu den vorhandenen Therapien (S. P. W. Kumarasinghe, Ceylon Medical Journal 40 (1995) 94) gehören Phototherapie (PUVA), beispielsweise mit Methoxypsoralen,

Phenylalanin, oder Krellin, die Transplantation von kultivierten Melanozyten,

"epidermal grafting", und die Behandlung mit Steroiden oder Pflanzentrakten. Kürzlich wurde über die Behandlung mit Pseudocatalase berichtet (Schallreuter et al., Dermatology 190 (1995) 223). Kleine Herde können auch mit kosmetischer

Schminke oder Gefäßblösungen abgedeckt werden.

Poole et al. (British Journal of Dermatology, 137 (1997) 171) konnten zeigen, daß die Vitiligo befallene Haut im Vergleich zu normaler Haut einen hohen Gehalt an Tenascin aufweist. Der hohe Tenascin-Gehalt kann zum Verlust der Pigmentierung beitragen und die Repigmentierung verhindern. Tenascin (Crossin, J. Cell Biol. 61 (1990) 592) ist ein extracelluläres Matrix Glykoprotein, das aus sechs identischen Untereinheiten besteht, welche am Amino-Terminus über Disulfid-Brücken verknüpft sind. Die Tenascin Untereinheiten weisen eine charakteristische Domänenstruktur auf. Auf eine Cystein-reiche Sequenz am aminoterminalen Ende folgen drei, jeweils aus sich wiederholenden Einheiten aufgebaute Sequenzabschnitte aus zum EGF homologen Einheiten, aus zum Fibronectin (Typ III) homologen Einheiten und aus zum Fibrinogen homologen Einheiten.

Es existieren mehrere Isoformen der Tenascin Untereinheiten (im folgenden als Tenascin Isoformen bezeichnet), die sich in der Anzahl der sich wiederholenden Einheiten, die zum Fibronectin Typ III homolog sind, unterscheiden. Diese Isoformen werden durch alternatives Spleißen der Tenascin pre-mRNA und anschließende Translation der verschiedenen Spleißvarianten gebildet (A. Lepirni et al., Perspectives on Developmental Neurobiology 2 (1994) 117-123). Eine cDNA von humanem Tenascin wurde von A. Sri et al. (Nucleic Acids Res. 19 (1991) 525-531) beschrieben (Sequenz in Tabelle 1). Diese cDNA ist unter der Zugangsnummer X56160 in Gen-Datenbanken gespeichert und kann unter dieser Nummer beispielsweise unter EMBL/Genbank/DB/INSTR-PIR erhalten werden. Diese cDNA enthält einen Sequenzabschnitt, der für 12 sich wiederholende Einheiten, die zum Fibrinogen Typ III homolog sind, kodiert. Die cDNAs der anderen Isoformen

humanen Tenascins sind in diesem Sequenzabschnitt verkürzt und kodieren für weniger als 12 dieser sich wiederholenden Einheiten.

Die Expression von Tenascin ist räumlich und zeitlich begrenzt und ihm wird eine Bedeutung während der Entwicklung eines Organismus sowie bei pathologischen Veränderungen zugeschrieben (Crossin, vide supra). Solche pathologischen Veränderungen sind beispielsweise Vlligo, Tumore und Entzündungen.

Eine Möglichkeit zur Regulation der Genexpression bieten Antisense-Oligonukleotide (E. Uhlmann and A. Peyman, Chemical Reviews 90, 543 (1990), S. Agrawal, TIBTECH 1996, 376). In WO 94/21664 (L. Denner et al.) werden Antisense Oligonukleotide gegen Tenascin, die zur Inhibition der Proliferation der glatten Zellschicht eingesetzt werden, beschrieben. Die dort beschriebenen Oligonukleotide haben eine Länge von mindestens 18 Nucleotiden.

Eine Aufgabe der vorliegenden Erfindung war es, neue Oligonukleotide, die vorteilhafte Eigenschaften aufweisen und die zur vollständigen und/oder teilweisen Inhibition der Genexpression von Tenascin verwendet werden können, bereitzustellen.

Überraschenderweise wurde gefunden, daß Oligonukleotide, die eine Länge von bis zu 18 Nucleotiden aufweisen, die Expression von Tenascin effektiv beeinflussen können. Gegenstand der vorliegenden Erfindung sind Oligonukleotide mit 7 - 17 Nucleotideinheiten. In besonderen Ausführungsformen der Erfindung weisen die Oligonukleotide eine Länge von 17, 16, 15, 14, 13, 12, 11, 10, 9, 8 oder 7 Nucleotiden auf. Die Oligonukleotide entsprechen Abschnitten Tenascin-kodierender Sequenzen und die Oligonukleotide binden spezifisch an diese Tenascin-kodierenden Sequenzen (Nukleinsäuren), beispielsweise an das humane Tenascin-Gen und/oder humane Tenascin mRNA und/oder humane Tenascin cDNA. Die Abschnitte Tenascin-kodierender Sequenzen, denen die Oligonukleotide

entsprechen, haben vorzugsweise eine Länge von 17, 16, 15, 14, 13, 12, 11, 10, 9, 8 oder 7 Nucleotideinheiten (gilt insbesondere für die Bestimmung der Länge modifizierter und/oder chimärer Oligonukleotide bzw. von Oligonukleotid-Analoga).

In besonderen Ausführungsformen der Erfindung sind die Oligonukleotide gegen bestimmte Bereiche der Tenascin-kodierenden Sequenzen gerichtet, beispielsweise den Translationsstart, den 5'-nicht translatierten Bereich, den kodierenden Bereich und/oder den 3'-nicht kodierenden Bereich. In besonderen Ausführungsformen der Erfindung können die Oligonukleotide auch gegen Bereiche Tenascin-kodierender Sequenzen gerichtet sein, die für bestimmte Domänen des Tenascins kodieren, beispielsweise gegen die Cystein-reiche Domäne, gegen die zum EGF homologe Domäne, gegen die zum Fibronectin Typ III homologe Domäne und/oder die zum Fibrinogen homologe Domäne.

Gegenstand der Erfindung sind insbesondere Oligonukleotide, die

Sequenzabschnitten der humanen cDNA gemäß SEQ ID NO. 1 (Tabelle 1) entsprechen. Gegenstand der Erfindung sind weiterhin Oligonukleotide, die Sequenzabschnitten der cDNA mit der GenBank Zugangsnummer X56160 entsprechen.

In speziellen Ausführungsformen der Erfindung kann ein Oligonukleotid beispielsweise eine der folgenden Sequenzen haben:

SEQ ID NO. 2: 3'-GGTTTGGGTGGAGGTGG-5'
 SEQ ID NO. 3: 3'-GGAGTGGGTATCCCCCGG-5'
 SEQ ID NO. 4: 3'-GGTGGTATCCCCCGG-5'
 SEQ ID NO. 5: 3'-GGAGTGGGTATCCCC-5'
 SEQ ID NO. 6: 3'-AGAAAGACGAAAGAA-5'
 SEQ ID NO. 7: 3'-GGAGTGGGTATCC-5'
 SEQ ID NO. 8: 3'-GGAGCGATGGTCCCA-5'

Ausführungsformen der Erfindung kann ein Oligonukleotid gegebenenfalls ein oder mehrere Modifikationen, beispielsweise chemische Modifikationen, enthalten. Ein Oligonukleotid kann mehrere gleiche und/oder verschiedene Modifikationen aufweisen.

5

Beispiele für chemische Modifikationen sind dem Fachmann bekannt und beispielsweise in E. Uhlmann und A. Peyman, *Chemical Reviews* 90 (1990) 543 und "Protocols for Oligonucleotides and Analogs", *Synthesis and Properties & Synthesis and Analytical Techniques*, S. Agrawal, Ed. Humana Press, Totowa, USA 1993 und S. T. Crooke, F. Bennet, *Ann. Rev. Pharmacol. Toxicol.* 36 (1996) 107-129 beschrieben.

10

Die chemische Modifikation eines Oligonukleotids kann beispielsweise

a) den vollständigen oder teilweise Ersatz der Phosphorsäureesterbrücken durch modifizierte Phosphorbrücken, beispielsweise durch Phosphorothioat-,

15 Phosphorothioat-, NR⁺ Phosphoramidat-, Boranophosphat-, Phosphat-(C₁-C₂)-O-Alkylester, Phosphat-((C₅-C₆)Aryl-(C₁-C₂)-O-Alkyl)ester, (C₁-C₃)alkylphosphonate und/oder (C₅-C₆)-Arylphosphonate-Brücken, wobei

R⁺ und R⁺ unabhängig voneinander für Wasserstoff, (C₁-C₁₀)-Alkyl, (C₅-C₁₀)-Aryl, (C₅-C₁₀)-Aryl-(C₁-C₃)-alkyl, bevorzugt für Wasserstoff, (C₁-C₃)-Alkyl und/oder

20 Methoxyethyl, besonders bevorzugt für Wasserstoff, (C₁-C₃)-Alkyl und/oder

Methoxyethyl stehen

oder

R⁺ und R⁺ zusammen mit dem sie tragenden Stickstoffatom einen 5-6-gliedrigen heterocyclischen Ring bilden, der zusätzlich ein weiteres Heteroatom aus der Reihe

25 O, S, N enthalten kann,

bedeuten und/oder

5

SEQ ID NO. 9: 3'-AAAGGAACGGGAGG-5'
 SEQ ID NO. 10: 3'-GGTCGGTTGGGTGG-5'
 SEQ ID NO. 11: 3'-CTTAGAGGTGGTTGA-5'
 SEQ ID NO. 12: 3'-GCCCGTGTGGGTGT-5'
 SEQ ID NO. 13: 3'-TCACCCCTCTTCTGG-5'
 SEQ ID NO. 14: 3'-GGACACCGACAGGG-5'
 SEQ ID NO. 15: 3'-ACCGGGAGCGATGG-5'
 SEQ ID NO. 16: 3'-ATCTGGGGTGTCT-5'
 SEQ ID NO. 17: 3'-GGTGGTACCCC-5'
 SEQ ID NO. 18: 3'-CCCGGTACTGA-5'
 SEQ ID NO. 19: 3'-CCACAGAAAGAAC-5'
 SEQ ID NO. 20: 3'-CCACAGAAAGAAC-5'

10

Die Sequenzen SEQ ID NO. 2 bis SEQ ID NO. 20 entsprechen Abschnitten der Tenascin-kodierenden cDNA, wie sie in Tabelle 1 dargestellt ist. Ein Oligonukleotid, das eine der Sequenzen SEQ ID NO. 2 bis SEQ ID NO. 20 hat, ist komplementär zu einem entsprechenden Abschnitt einer Tenascin-kodierenden Nukleinsäure, z. B. einer humanen Tenascin cDNA und kann an diese Nukleinsäure binden.

15

Gegenstand der Erfindung sind auch Derivate des Oligonukleotids, beispielsweise dessen Salze, insbesondere dessen physiologisch verträglichen Salze. Unter physiologisch verträglichen Salzen werden in Wasser leicht lösliche, isotische und wenig toxische Verbindungen, beispielsweise gemäß der Definition im "Deutschen Arzneibuch" (9. Ausgabe 1986, Amtliche Ausgabe, Deutscher Apotheker Verlag Stuttgart), Seite 19, verstanden. Eine spezielle Ausführungsform der Erfindung betrifft das Natriumsalz des erfindungsgemäßen Oligonukleotids.

25

Ein Oligonukleotid kann beispielsweise vollständig aus den Nukleotiden Adenosinphosphat, Guanosinphosphat, Inosinphosphat, Cytidinphosphat, Uridinphosphat und Thyminphosphat aufgebaut sein. In anderen

30

- b) den vollständigen oder teilweisen Ersatz der 3'- und/oder 5'-Phosphorsäureesterbrücken durch "Diphospho"-Brücken (beschrieben beispielsweise in Uhlmann, E. und Peyman, A. in "Methods in Molecular Biology", Vol. 20, "Protocols for Oligonucleotides and Analogs", S. Agrawal, Ed., Humana Press, Totowa 1993, Chapter 16, 355ff), beispielsweise durch Formacetal, 3'-Dimethylsulfonyl und/oder Silylgruppen bedeuten und/oder

- c) den vollständigen oder teilweisen Ersatz des Zuckerphosphat-Rückgrats, beispielsweise durch "Morpholinonucleosid"-Oligomere beispielsweise in E. P. Strickland et al., *Nucleic Acids Res.* 17 (1989) 6129 beschrieben und/oder durch Polyamid Nucleinsäuren ("PNAs") (beispielsweise beschrieben in P. E. Nielsen et al., *Biochem. Chem.* 5 (1994) 3) und/oder Phosphorinosäureester Nucleinsäuren ("PHONAs") (beschrieben beispielsweise in Peyman et al., *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* 35 (1996) 2632-2638) bedeuten und/oder

- d) den vollständigen oder teilweisen Ersatz der 5'-D-2'-Desoxyriboseeinheiten, beispielsweise durch α -D-2'-Desoxyribose, L-2'-Desoxyribose, 2'-F-2'-Desoxyribose, 2'-O-(C₁₂-C₁₈Alkyl)-Ribose, 2'-O-(C₁₂-C₁₈Alkyl)-Ribose 2'-O-(C₁₂-C₁₈Alkyl)-Ribose, 2'-NH₂-2'-desoxyribose, 5'-D-Xylofuranose, 5'-D-Arabinofuranose, 2'-4'-Dideoxy-5'-D-erythro-hexo-pyranose, und carboxylic acids (beschrieben beispielsweise in Froehner, J. *Am. Chem. Soc.* 114 (1992) 8320) und/oder offene Kettige Zuckeralanaloge (beschrieben beispielsweise in Vandendriessche et al., *Tetrahedron* 49 (1993) 7223) und/oder bicyclo-Zuckeralanaloge (beschrieben beispielsweise in M. Tarkov et al., *Helv. Chim. Acta* 76 (1993) 481) bedeuten und/oder

- e) die Modifikation beziehungsweise den vollständigen oder teilweisen Ersatz der natürlichen Nucleosid-Basen, beispielsweise durch 5-(Hydroxymethyl)uracil, 5-

- Aminouracil, Pseudouracil, Dihydrouracil, 5-(C₁₂-C₁₈Alkyl)-uracil, 5-(C₁₂-C₁₈Alkyl)-uracil, 5-(C₁₂-C₁₈Alkyl)-cytosin, 5-(C₁₂-C₁₈Alkyl)-cytosin, 5-(C₁₂-C₁₈Alkyl)-cytosin, 5-Fluorouracil, 5-Fluorocytosin, 5-Chlorouracil, 5-Chlorocytosin, 5-Bromouracil, 5-Bromocytosin und/oder 7-Deaza-7-substituierte Purine bedeuten und/oder

- f) die Konjugation mit einem oder mehreren Molekülen, die die Eigenschaften der Oligonukleotids an spezielle Anforderungen anpassen können, beispielsweise die Konjugation eines Oligonukleotids mit einem oder mehreren Molekülen, welche die Eigenschaften (beispielsweise Zellpenetration, Nucleoasestabilität, Affinität zur Terasin-kodierenden Target-Sequenz, Pharmakokinetik) des Oligonukleotids, z.B. die eines Antisense-Oligonukleotids und/oder eines Tipitelhelix-bildenden Oligonukleotids günstig beeinflussen und/oder bei der Hybridisierung des modifizierten Oligonukleotids an die Target-Sequenz diese unter Bindung und/oder Quervernetzung angreifen kann (Oligonukleotid-Konjugate), bedeuten. Beispiele dafür sind Konjugate mit Poly-Lysin, mit Interkalatoren wie Pyren, Acridin, Phenazin, Phenanthridin, mit fluoreszierenden Verbindungen wie Fluorescein, mit Cross-Linkern wie Psoalolen, Azidopropalin, mit lipophilen Molekülen wie (C₁₂-C₁₈)-Alkyl-, mit Lipiden wie 1,2-Di-hexadecyl-rac-glycerin, mit Steroiden wie Cholesterin und/oder Testosteron, mit Vitaminen wie Vitamin E, mit Poly- bzw. Oligo-ethylenglycol, mit (C₁₂-C₁₈)-Alkyl-Phosphatdiestern und/oder mit -O-CH₂-CH(OH)-O-(C₁₂-C₁₈)-Alkyl. Solche Moleküle können an 5'- und/oder am 3'-Ende und/oder innerhalb der Sequenz, z.B. über eine Nucleobase an das Oligonukleotid konjugiert sein.

- Verfahren zur Herstellung eines Oligonukleotid-Konjugats sind dem Fachmann bekannt und z.B. in Uhlmann, E. & Peyman, A., *Chem. Rev.* 90 (1990) 543 und/oder M. Manoharan in "Antisense Research and Applications", Crooke and Lebleu, Eds., CRC Press, Boca Raton, 1993, Chapter 17, S.303ff. und/oder EP-A 0 552 786 beschrieben.

- g) Weiterhin kann in speziellen Ausführungsformen der Erfindung das Oligonukleotid am 3' und/oder am 5'-Ende 3':3'- und/oder 5':5'-Inversionen aufweisen. Diese Art der chemischen Modifikation ist dem Fachmann bekannt und beispielsweise in M. Koga et al., J. Org. Chem. 56 (1991) 3757 beschrieben.

5 In bevorzugten Ausführungsformen der Erfindung weist das Oligonukleotid eine oder mehrere chemische Modifikationen auf, die unabhängig voneinander ausgewählt werden können aus der Reihe enthaltend

- a) den vollständigen oder teilweisen Ersatz der Phosphorsäurediesterbrücken durch Phosphorothioat- und/oder (C_1-C_9) -Alkylphosphonat-Brücken,
- b) den vollständigen oder teilweisen Ersatz des Zuckerphosphat-Rückgrats durch "PNA's" und/oder PHONA's,
- c) den vollständigen oder teilweisen Ersatz der β -D-2'-Desoxyriboseeinheiten durch 2'-F-2'-Desoxyribose, 2'-O-(C_1-C_9)-Alkyl-Ribose und/oder 2'-O-(C_1-C_9)-Alkyl-O-(C_1-C_9)-Alkyl-Ribose,
- 15 d) den vollständigen oder teilweisen Ersatz der natürlichen Nucleosid-Basen durch 5-(C_1-C_9)-Alkyl-uracil und/oder 5-(C_1-C_9)-Alkyl-cytosin,
- e) die 3':3'-Inversionen am 3'-Ende des Oligonukleotids,

- f) die Konjugation des Oligonukleotids mit einem oder mehreren Molekülen, die unabhängig voneinander ausgewählt werden können, aus der Reihe enthaltend lipophile Moleküle, z.B. ($C_{12}-C_{20}$)-Alkyl, Lipide, z.B. 1,2-Di-hexadecyl-rac-glycerin, Steroide, z.B. Cholesterin und/oder Testosteron, Vitamine, z.B. Vitamin E, Poly-
20 bzw. Oligo-ethylenglycol, ($C_{12}-C_{10}$)-Alkyl-Phosphatdiestern und -O-CH₂-CH(OH)-O- ($C_{12}-C_{10}$)-Alkyl.

In anderen bevorzugten Ausführungsformen der Erfindung weist das Oligonukleotid eine oder mehrere chemische Modifikationen auf, die unabhängig voneinander ausgewählt werden können aus der Reihe enthaltend

25

- a) den vollständigen oder teilweisen Ersatz der Phosphorsäurediesterbrücken durch Phosphorothioat-Brücken,

b) den vollständigen oder teilweisen Ersatz der β -D-2'-Desoxyriboseeinheiten durch 2'-F-2'-Desoxyribose, 2'-O-(C_1-C_9)-Alkyl-Ribose und/oder 2'-O-(C_1-C_9)-Alkyl-O-(C_1-C_9)-Alkyl-Ribose,

- 5 c) die Konjugation mit lipophilen Molekülen, z.B. ($C_{12}-C_{20}$)-Alkyl, mit Lipiden, z.B. 1,2-Di-hexadecyl-rac-glycerin, mit ($C_{12}-C_{10}$)-Alkyl-Phosphatdiestern und/oder mit CH_2 -CH(OH)-O-($C_{12}-C_{10}$)-Alkyl.

In einer besonderen Ausführungsform der Erfindung wird ein Oligonukleotid bereitgestellt, das eine oder mehrere Modifikationen aufweisen kann und das eine der Sequenzen SEQ ID NO. 2 - SEQ ID NO. 20 aufweist bzw. das einer der Sequenzen SEQ ID NO. 2 bis SEQ ID NO. 20 entspricht bzw. das den

entsprechenden Sequenz-Abschnitt einer Tenascin-kodierenden Sequenz entspricht und an diesen Abschnitt der Tenascin-kodierenden Sequenz binden kann.

15

In einer besonderen Ausführungsform der Erfindung werden Oligonukleotide bereitgestellt, in deren Sequenz jedes Nukleotid modifiziert ist. In einer besonderen Ausführungsform der Erfindung ist beispielsweise das Oligonukleotid vollständig aus Phosphorothioaten aufgebaut (durchgängig modifiziertes Phosphothioat). In einer weiteren speziellen Ausführungsform der Erfindung werden Oligonukleotide bereitgestellt, die den Sequenzen SEQ ID NO. 2 - SEQ ID NO. 20 entsprechen,

wobei alle die Phosphodiester Brücken zwischen den einzelnen Nukleosiden (d.h. die Phosphatgruppen zwischen den einzelnen Nukleosiden) vollständig durch Phosphothioat Brücken (d.h. Phosphothioatgruppen zwischen den Nukleosiden) ersetzt sind.

25

In einer weiteren besonderen Ausführungsform der Erfindung wird ein Oligonukleotid bereitgestellt, indem nur ein Teil der Phosphodiester Brücken durch Phosphothioat

Brücken ersetzt ist. Insbesondere beinhaltet die Erfindung Oligonukleotide die nur minimal modifiziert sind. Das Prinzip der minimal modifizierten Oligonukleotide ist beschrieben in A. Peyman, E. Uhlmann, Biol. Chem. Hoppe-Seyler, **377** (1996) 67-70. Dabei werden 1-3 endständige Nucleotid-Einheiten am 5'- und am 3'-Ende und zusätzlich ausgewählte interne Pyrimidin-Positionen durch Phosphorothioate geschützt. Minimal modifizierte Oligonukleotide weisen besonders vorteilhafte Eigenschaften auf, beispielsweise zeigen sie besondere Nukleasestabilität bei minimaler Modifikation.

10 Spezielle Ausführungsformen der Erfindung beinhalten ein minimal modifiziertes Oligonukleotid, das ist eine der Sequenzen, ausgewählt aus der Reihe der Sequenzen SEQ ID NO 21 bis SEQ ID NO 39, aufweist.

- SEQ ID NO 21 3'-GSGsTsTsTGGGTsGGAGGsTsGSG-5'
 SEQ ID NO 22 3'-GSGsAsGtTsGGTtAcCcCsCsGg-5'
 SEQ ID NO 23 3'-GSGsTGTtAcCcCsCsCsGg-5'
 SEQ ID NO 24 3'-GSGsAGGTsGGTtAcAcCsCsC-5'
 SEQ ID NO 25 3'-AsGAAAGAAAsCcGAAAGGsAsA-5'
 SEQ ID NO 26 3'-GSGsAGGTsGGTtAcCcC-5'
 SEQ ID NO 27 3'-GSGsAGCsGATsGGGCTsTsCcSA-5'
 SEQ ID NO 28 3'-AsAsAGGAACcGGGAGCsGg-5'
 SEQ ID NO 29 3'-GSGsTCGGTtTsTGGGTsGSG-5'
 SEQ ID NO 30 3'-CsTsTACAGGTtCsCGTtSGsA-5'
 SEQ ID NO 31 3'-GSGsCsGtTGTtTCGGTtSGt-5'
 SEQ ID NO 32 3'-TScsAcCsCcTsCtTsTsTsTsTsGg-5'
 SEQ ID NO 33 3'-GSGsAsCACcCCGACsGAGsG-5'
 SEQ ID NO 34 3'-AsAsCsGGGAGCGATsGg-5'
 SEQ ID NO 35 3'-AsTsCsTCGGGGGTsGgTsC-5'
 SEQ ID NO 36 3'-AsAsAGAAcCsGAAAGGsAsA-5'
 SEQ ID NO 37 3'-GSGsTGTtAcCcCsC-5'

- SEQ ID NO 38 3'-CsCsCsGGTtAcCsTsGSA-5'
 SEQ ID NO 39 3'-CsCsAsCAGAAAGsASAc-5'

Die Sequenzen SEQ ID NO 21 bis SEQ ID NO 39 entsprechen den Sequenzen SEQ ID NO 2 - SEQ ID NO 20, d.h. sie können an die gleichen Bereiche einer Ternaäin-kodierenden Sequenz binden, wobei allerdings im Gegensatz den SEQ ID NO 2-20 ein Teil der Phosphodiester Brücken durch Phosphothioat-Brücken (in der Sequenz durch ein "s" gekennzeichnet) ersetzt ist.

Eine weitere Ausführungsform der Erfindung betrifft chimäre Oligonukleotide. Ein chimäres Oligonukleotid ist aus mindestens zwei verschiedenen

Sequenzabschnitten aufgebaut, beispielsweise aus einem DNA-Abschnitt und einem modifizierten Abschnitt, z.B. einem PNA-Abschnitt. Diese unterschiedlichen Abschnitte verleihen dem gesamten Oligonukleotid besondere Eigenschaften.

Eine besondere Form chimärer Oligonukleotide ist beispielsweise in Matteucci und Wagner, Nature 384 SUPP (1996) 20-22 beschrieben: Ein chimäres Oligonukleotid kann z.B. 1. eine sogenannte "Core Sequenz", die aus etwa sieben Nukleotiden besteht und die die RNase H aktivieren kann sowie 2. eine oder mehrere flankierende Sequenzen, welche die Affinität, Spezifität und/oder Nuklease-Stabilität des Oligonukleotids erhöhen, enthalten. Beispielsweise kann die "Core Sequenz"

Phosphorothioat und/oder Phosphodiester Brücken enthalten. Als flankierende Sequenzen eignen sich beispielsweise PNAs und/oder 2'-O-Alkyl-Derivate wie ein 2'-Methyl und/oder 2'-O-Propyl und/oder 2'-Methoxyethoxy-Derivate.

Eine besondere Ausführungsform der Erfindung betrifft ein chimäres Oligonukleotid, das eine der Sequenzen SEQ ID NO 40 - SEQ ID NO 58 aufweist, wobei

25 x unabhängig voneinander für Phosphorothioat und/oder Phosphodiester steht, und

- y unabhängig voneinander für 2'-O-Methyl und/oder 2'-O-Propyl und/oder 2'-Methoxyethoxy und/oder einen PNA-Baustein steht.

SEQ ID NO. 40: 3'-GyGyTtYtYgGxGxTxGxGxGyTyTyGyG-5'
 SEQ ID NO. 41: 3'-GyGyAYGyGyTxGxGxTxAcXcXcXcYcYcYcG-5'
 SEQ ID NO. 42: 3'-GyGyTxGxGxTxAcXcXcXcYcYcYcG-5'
 SEQ ID NO. 43: 3'-GyGyAYGyGyTxGxGxTxAcXcXcYcYcYc-5'
 SEQ ID NO. 44: 3'-AYGyAYAAAGxGxGxGxGxGxAYGyGyAY-5'
 SEQ ID NO. 45: 3'-GyGyAGxGxTxGxGxTxAcYcYc-5'
 SEQ ID NO. 46: 3'-GyGyAGxGxGxTxGyGyTyTyTyGyAY-5'
 SEQ ID NO. 47: 3'-AYAYGyGxGxGxGxGxGxAYGyGyG-5'
 SEQ ID NO. 48: 3'-GyGyTyGxGxTxTxGxGyTyTyGyAY-5'
 SEQ ID NO. 49: 3'-CyTyTyACxAGxGxTxGxGyTyTyGy-5'
 SEQ ID NO. 50: 3'-GyGyCxCxTxGxTxTxGxGyTyTyGy-5'
 SEQ ID NO. 51: 3'-TyCyAYCxCxCxCxTxTxTyTyTyTyGyG-5'
 SEQ ID NO. 52: 3'-GyGyAYCxCxCxCxGxGxAYGyGyG-5'
 SEQ ID NO. 53: 3'-AYAYGyGxGxGxGxGxGxAYTyGyG-5'
 SEQ ID NO. 54: 3'-ATyTyTyTxGxGxGxGxTxGxTxGyTyG-5'
 SEQ ID NO. 55: 3'-AYAYGyGxGxGxGxGxGxAYGyGyAY-5'
 SEQ ID NO. 56: 3'-GyGyTyGxGxTxAcXcXcYcYc-5'
 SEQ ID NO. 57: 3'-CyCxCxGxGxTxAcYcYcYcAY-5'
 SEQ ID NO. 58: 3'-CyCyAYCxCxCxCxGxGxAYGyAYC-5'

Die Sequenzen SEQ ID NO. 40 - SEQ ID NO. 58 entsprechen den oben genannten Sequenzen SEQ ID NO. 2 bis SEQ ID NO. 20, d.h. sie binden an die entsprechenden Sequenzabschnitte einer Tenascin-kodierenden Sequenz, wobei allerdings die genannten Modifikationen enthalten sind

Die Erfindung betrifft Verfahren zur Herstellung der Oligonukleotide. Die beschriebenen Oligonukleotide können mit Hilfe verschiedener bekannter, chemischer Verfahren, z.B. unter Anwendung der Standard Phosphoramidit-Chemie

unter Verwendung von Jod bzw. TED (Tetraethylthiuramdisulfid) als Oxidationsmittel, hergestellt werde. Dieses Verfahren ist z.B. in Eckstein, F. (1991) "Oligonukleotides and Analogues, A Practical Approach", IRL Press, Oxford beschrieben. Die Oligonukleotide können auch durch Verfahren hergestellt werden, die gegebenenfalls einen oder mehrere enzymatische Schritte enthalten.

Die Erfindung betrifft die Verwendung der Oligonukleotide. Die Oligonukleotide können zur Hybridisierung bzw. Bindung an Tenascin-kodierende (einzelssträngige und/oder doppelsträngige) Nukleinsäuren, beispielsweise DNA (z.B. Gene, cDNA) und/oder doppelsträngige mRNA, verwendet werden. Insbesondere betrifft dies die Verwendung der Oligonukleotide zur Hybridisierung mit bzw. Bindung an Nukleinsäuren, die die Sequenz SEQ ID NO. 1 gemäß Tabelle 1 aufweisen bzw. mit Nukleinsäuren, die Teile dieser Sequenz aufweisen (beispielsweise Sequenzen, die für Tenascin Isoformen kodieren) bzw. mit Nukleinsäuren, deren Sequenz geringfügig von diesen Sequenzen abweicht (die z.B. eine oder mehrere Punktmutationen aufweisen).

Die Erfindung betrifft weiterhin die Verwendung der Oligonukleotide zur Modulation sowie zur ganzen oder teilweisen Inhibition der Expression von Tenascin bzw. verschiedener Tenascin Isoformen bzw. von Mutanten derselben, beispielsweise zur ganzen oder teilweisen Inhibition der Transkription und/oder der Translation.

Die Erfindung beispielsweise die Verwendung der Oligonukleotide als Antisense Oligonukleotide. Darüber hinaus können die Oligonukleotide als Hilfsmittel in der Molekularbiologie verwendet werden.

Die Erfindung betrifft weiterhin die Verwendung der Oligonukleotide als Arzneimittel und/oder Diagnostikum bzw. die Verwendung der Oligonukleotide zur Herstellung von Arzneimitteln und/oder Diagnostika. Insbesondere können die Oligonukleotide mit Arzneimitteln und/oder Diagnostika, die zur Prävention und/oder Behandlung von Krankheiten, die mit Expression bzw. einer Überexpression von Tenascin einhergehen, eingesetzt werden. Da die Expression von Tenascin normalerweise, d.h. z.B. beim gesunden

Menschen räumlich und zeitlich begrenzt ist, kann ein Abweichen von dieser normalen (räumlichen und zeitlichen) Expression, als Überexpression angesehen werden. Weiterhin können die Oligonukleotide für die Diagnose bzw. Früherkennung solcher Krankheiten eingesetzt werden.

- 5 Die Erfindung betrifft weiterhin die Verwendung der Oligonukleotide bzw. von Arzneimitteln, die diese Oligonukleotide enthalten, zur Behandlung von Krankheiten, bei denen Tenascin bzw. eine Überexpression von Tenascin ursächlich bzw. beteiligt ist.

- 10 Die Erfindung betrifft insbesondere die Verwendung der Oligonukleotide zur Behandlung und/oder Prävention von Krankheiten, bei denen eine Fehlsteuerung bzw. Störung der Einwanderung bzw. des Vorhandenseins bzw. der Einlagerung von Melanocyten in Epithelzellschichten, beispielsweise in Epithelzellschicht der Epidermis, der Aderhaut des Auges oder der Substantia nigra, zugrunde liegt bzw. beteiligt ist.

- 15 Die Erfindung betrifft insbesondere die Verwendung der Oligonukleotide zur Behandlung von Vitiligo und anderen Depigmentierungskrankheiten bzw. Depigmentierungsstörungen (z.B. der Haut, Haare, Augen) beispielsweise Albinismus und/oder die Verwendung der Oligonukleotide zur Behandlung von Psoriasis und/oder zur Behandlung von Krebs, z.B. zur Inhibitorien von Tumorstadium und Tumormetastasierung, beispielsweise bei Melanomen und/oder zur Behandlung von Entzündungen, insbesondere als Entzündungshemmer und/oder zur Behandlung und/oder Prophylaxe kardiovaskulärer Erkrankungen, beispielsweise der Restenose.

- 25 Insbesondere betrifft die Erfindung die Verwendung der Oligonukleotide zur Behandlung von Vitiligo bzw. zur Herstellung von Arzneimitteln, die zur Behandlung von Vitiligo verwendet werden können. Die Erfindung betrifft darüber hinaus ganz allgemein (d.h. auch Oligonukleotide mit einer Länge von größer oder gleich 18

Nukleotiden) die Verwendung von Oligonukleotiden zur Behandlung von Vitiligo bzw. die Herstellung von Arzneimitteln, die zur Behandlung von Vitiligo verwendet werden können.

- 5 Die Erfindung betrifft weiterhin die Verwendung zur Behandlung von Vitiligo in Kombination mit bekannten therapeutischen Verfahren, beispielsweise in Kombination a) mit Phototherapie (PUVA), z.B. unter Verwendung von Methoxypsoralen, Phenylalanin und/oder Kteilin und/oder b) mit der Transplantation von kultivierten Melanocyten ("epidermal grafting") und/oder c) mit einer Steroid-Behandlung und/oder d) mit einer Behandlung mit Plazenta-Extrakten und/oder e) mit einer Behandlung mit Pseudocatalase.

- 10 Die Erfindung betrifft weiterhin Verfahren zur Herstellung von Arzneimitteln (pharmazeutischen Zubereitungen). Zur Herstellung von Arzneimitteln werden ein oder mehrere verschiedene Oligonukleotide bzw. deren physiologisch verträgliche Salze vermischt, wobei gegebenenfalls weitere pharmazeutische Träger- und/oder Zusatzstoffe zugegeben werden können.

- 15 Die Erfindung betrifft weiterhin pharmazeutische Zubereitungen, die ein oder mehrere verschiedene Oligonukleotide und/oder deren physiologisch verträgliche Salze sowie gegebenenfalls pharmazeutische Träger- und/oder Zusatzstoffe enthalten.

- 20 Das bzw. die Oligonukleotid(e) und/oder deren physiologisch verträgliche Salze können am Tier, bevorzugt am Säugtier, insbesondere am Menschen als Arzneimittel für sich allein, in Mischungen untereinander oder in Form von pharmazeutischen Zubereitungen verabreicht werden. Die Arzneimittel können endotopische, perkutane, parenterale und/oder enterale Anwendung gestalten. Die jeweils bevorzugte Anwendungsform hängt von den jeweils speziellen Gegebenheiten ab. Zur Behandlung von Vitiligo beispielsweise wird eine topische Anwendung, z.B. in Form von Salben, Lotionen oder Trakturen, Emulsionen,

Suspensionen bevorzugt. Ebenso hängt die Häufigkeit der Applikation von den individuellen Gegebenheiten ab. Zur Behandlung von Vaginitis kann beispielsweise eine topische Komposition ein bis zweimal am Tag auf die pigmentierte Hautstelle aufgetragen werden.

- 5 Arzneimittel bzw. pharmazeutische Zubereitungen können als aktiven Bestandteil eine wirksame Dosis mindestens eines Oligonukleotids und/oder einer Mischung mehrerer Oligonukleotide und Gegebenheiten zusätzliche, pharmazeutische einwandfreie Träger- und/oder Zusatzstoffe enthalten. Eine pharmazeutische Zubereitung kann etwa 0,1 % (Gewichtsprozent) oder weniger bis etwa 90 % (Gewichtsprozent) oder mehr des therapeutisch wirksamen Oligonukleotids bzw. der pharmazeutisch wirksamen Oligonukleotide enthalten.

Die pharmazeutisch wirksame Dosis des jeweiligen Oligonukleotids bzw. eines Oligonukleotids, welches Bestandteil einer Mischung verschiedener Oligonukleotide ist, kann innerhalb weiter Grenzen variieren und ist in jedem einzelnen Fall den individuellen Gegebenheiten anzupassen.

- 15 Die Herstellung der pharmazeutischen Zubereitungen kann in an sich bekannter Weise z. B. beschrieben in Remingtons Pharmaceutical Sciences, Mack Publ. Co., Easton, PA, durchgeführt werden, wobei gegebenenfalls pharmazeutisch inerte anorganische und/oder organische Trägerstoffe verwendet werden können. Für die Herstellung von Pillen, Tabletten, Dragees und/oder Hartgelatinekapseln können deren Salze verwendet werden. Als Trägerstoffe für Weichgelatinekapseln und/oder deren Salze verwendet werden. Als Trägerstoffe für flüssige Polymere, Suppositorien können z. B. Fette, Wachse, halbfeste und/oder flüssige Polymere, natürliche und/oder gehärtete Öle verwendet werden. Als Trägerstoffe für die Herstellung von Lösungen und/oder Sirupen können z. B. Wasser, Saccharose, Invertzucker, Glukose und/oder Polymere verwendet werden. Als Trägerstoffe für die Herstellung von Injektionslösungen können z. B. Wasser, Alkohole, Glycerin, Polymere und/oder pflanzliche Öle verwendet werden. Als Trägerstoffe für Mikrokapseln,

- 20 25

Implantate und/oder Rots können beispielsweise Mischpolymerisate, z. B. aus Glykolsäure und Milchsäure verwendet werden. Darüber hinaus sind Liposomenformulierungen, die dem Fachmann bekannt sind (N. Weiner, Drug Develop. Ind. Pharm. 15 (1989) 1523; "Liposome Dermatics, Springer Verlag 1992), beispielsweise HVA-Liposomen (Hayashi, Gene Therapy 3 (1986) 878) geeignet. Die demale Applikation kann beispielsweise auch unter Zuhilfenahme ionophoretischer Methoden und/oder mit Hilfe der Elektroporation erfolgen. Darüber hinaus können Lipidkine und/oder andere (Nukleinsäure- bzw. DNA-Carriersysteme, beispielsweise solche, die in der Gentherapie Anwendung finden, verwendet werden. Insbesondere sind Systeme geeignet, mit deren Hilfe Oligonukleotide mit großer Effizienz in eukaryotische Zellen bzw. die Kerne eukaryotischer Zellen eingebracht werden können.

Eine pharmazeutische Zubereitung kann neben den Wirk- und Trägerstoffen noch Zusatzstoffe, wie z. B. Füllstoffe, Streck-, Spreng-, Binde-, Gleit-, Netz-,

- 15 20

Stabilisierungs-, Emulgier-, Konservierungs-, Sub-, Farbe-, Geschmacks- oder Aromatisierungs-, Dicks-, Verdünnungsmittel, Puffersubstanzen, ferner Lösungsmittel und/oder Lösungsvermittler und/oder Mittel zur Erzielung eines Depoteffekts, sowie Salze zur Veränderung des osmotischen Drucks. Überzugsmittel und/oder Antioxidantien enthalten. Sie können auch zwei oder mehrere verschiedene Oligonukleotide und/oder deren physiologisch verträgliche Salze enthalten sowie ferner neben mindestens einem Oligonukleotid einen oder mehrere andere therapeutisch wirksame Stoffe.

Beispiele

Beispiel 1: Oligonukleotidsynthese

Oligonukleotide wurden auf einem automatischen DNA Synthesizer (Applied Biosystems Model 380B oder 394) unter Anwendung der Standard Phosphoramidite Chemie und Oxidation mit Iod synthetisiert (F. Eckstein, Ed. "Oligonucleotides and

Analogues, A Practical Approach", IRL Press, Oxford, 1991). Zur Einführung von Phosphorhoat-Brücken in gemischten Phosphorhoat- und Phosphodiester Oligonukleotiden wurde anstelle von Jod mit TETD (Tetraethylthiurdisulfid) oxidiert (Applied Biosystems User Bulletin 65). Nach Abspaltung vom festen Träger (CPG oder Teniagel) und Entfernung der Schutzgruppen mit konz. NH_3 bei 55°C (18h) wurden die Oligonukleotide zunächst durch Butanol-Fällung (Sawadogo, Van Dyke, Nucleic Acids Res. 19 (1991) 674) gereinigt. Das Natriumsalz wurde dann durch Ausfällung aus einer 0,5 M NaCl-Lösung mit 2,5 Volumenteilen Ethanol erhalten.

10 Die Oligonukleotide wurden mit Hilfe der

a) Analytischen Gelelektrophorese (Gel: 20% Acrylamid, 8M Harnstoff, Lauffuffer: 454M Tris-borat Puffer, pH 7,0) und/oder

b) HPLC-Analyse (Säulenmaterial: Waters GenPak FAX; Gradient: CH_3CN (400ml), H_2O (1,6l), NaH_2PO_4 (3,1g), NaCl (11,7g), pH 6,8 (0,1M an NaCl)) nach CH_3CN (400ml), H_2O (1,6l), NaH_2PO_4 (3,1g), NaCl (11,75,3g), pH 6,8 (1,5M an NaCl)) und/oder

c) Kapillarelektrophorese (Beckmann Kapillare eCAPTM, 1000P Gel Column, 65 cm length, 100 mm I.D., window 15 cm from one end, Puffer: 140 μM Tris, 380mM Borsaure, 7M Harnstoff) und/oder

20 d) Elektrospray Massenspektroskopie

analysiert

Die Analyse des Oligonukleotids ergab, daß dieses jeweils in einer Reinheit von größer 90% vorlag

Synthetisiertes Oligonukleotid

25 ODN1 (Sequenz SEQ ID NO 24) 3'-GSGAGGTGGTACACcCsc-5'

Beispiel 2: Herstellung einer pharmazeutischen Zubereitung

50 mg ODN 1 aus Beispiel 1 werden mit 1g Dermatop[®] (Hoechst

5 Aktiengesellschaft, Frankfurt am Main, Germany) Basiscreme eng vermischt und die Mischung bei Temperaturen $< 10^\circ\text{C}$ aufbewahrt.

Beispiel 3:

10 Die Creme aus Beispiel 2 soll zweimal täglich (morgens und nachmittags bzw. abends) auf eine depigmentierte Hautstelle eines Vitiligo-Patienten aufgetragen werden.

11 20 10 98

Tabelle 1 Sequenz SEQ ID NO. 1:

Sequenz der humanen Tenascin cDNA nach A. Sili et al. Nucleic Acids Res. 19

(1991) 525-531.

5
 GAATTTGCTA GAGCTCTAGA GCGCAGGAG GAGCCAGGCA AACCCACTT CAGCATGGG 60
 GCGTACTACT AACTGTATGCG AAGTGTCTTT CTTCCTCTT TTGCTCTTG TACGAGAGT 120
 GGGTCTCTTA AAAAGATCAT CGGAGCAGG GAGAGAGAGT GAGTGAAGCC CAGCTTCCA 180
 GAGAGAGACC AAGCATATGTT GTTATGAGC GTTATGAGCA TGAAGCTCC AATGGATATC 240
 GAGATTTGCG TGATCTTGGA GTGAGCAAT GGGAGAGAG AACTGTGAGC GCTTCAAG 300
 CAGTCTTGG TGATCTTGGA GAGAGAGTA GATGGGAAA AACAGATTT CTTCACAT 360
 CCGAGAGAAA GCTTTTCAAG GAGAGAGTA GATGGGAAA AACAGATTT CTTCACAT 420
 GCGATCAAGA TCCCTGCGCG GCGCTGTGCG TGTGCGGAG GCGCTGATTT TAAGAGATG 480
 CTGAGCAGAG TGAGAGAGCT GAGAGAGCT GTGTCTTCCC TAAGAGAGCA ATATAGTCA 540
 GAGAGAGCT GGTGTCTTCA GCTGTGAGCA GCGGTGTGAG AACAGAGCC CTCTGTAGC 600
 GGTGTGAGCA ATTCTAGAG TGAGAGATGT GGTGTGTCTT GCGAGCTCG GTGAGAGG 660
 CCGAGTCTT CTGAGAGCA ATGTCTAGCG AACTGTGAGC TTGAGAGCG GTGAGTAT 720
 GGGAGATGCA TGTGTAGCA GCGTGTGAG GCGAGAGAT GAGAGAGCT GCGTTGCGCC 780
 AAGCATCTAA ATAGCAGAG GAGTGTGAGT AATGAGATCT GATCTGTCTT CAGAGCTTAC 840
 GCGCTGATTT GCGAGCTGAA AATCTGTGCA GTTCTGTGCA GTGAGAGCA GCGAGATAT 900
 GTATGATGCT TGTGTGTG TGACATGCG TTGTGAGCG ATAGCTGAG CAGAGCTG 960

TGCTTACA ATCTCTAGCA CCGTGGAGCA TGAGTGGAGA ATGATGTGCT GTGTATGAG 960
 GATTTCAGG GCGAGAGACT CAGTGAAGTC ATCTGCGGCA ATGACTCTT CAGACGGGAC 1020
 GCGTCACTA ATGGCACTG CTATGCGAA GAGGCTTCTA GAGTGGAGA CTGGGGAAA 1080
 CCGACTGCG CAGATGCTG CGAGCGGAG GCGCGGTGTA AGAGAGAGCA GTGTGTAT 1140
 5 GATGAGAGCT TTGCGGTGTT GAGCTAGCG GAGAGAGAT GTCTCTCTTA CTGTACAT 1200
 CGTGCGCT GTTATAGAG GCGTGTGAG TGTATGATG GTTTACTAGG ACGTGAAT 1260
 GGGAGAGCTA AATGTCTGAA TGGCTGAT GCGCATGCGC GGTGTGTCTA TGGCAATGT 1320
 GTGTGTGAT GAGGCTATAC TGGAGAGAG TCGAGCGAGC TACGCTGCGC CATGACTGT 1380
 CAGATGAGG GCGCTGTGTT CAGGGGAAA TGTGTATGTA AGGAGAGCTT CAGAGCTAT 1440
 10 GACTGAGAT ACGTGAAGT GCGTATATG TGTGACAGC AGGCGCGCTG TGTGATGCG 1500
 AATGTGTTT GTATGAGCG CTAGAGAGG GAGAGCTGCG GAGTATGCGA ATGCGCGAG 1560
 GACTGAGCA ACGAGAGCTT GTGTGTGAG GAGAGATGCG TGTGTAGGA GCGTCTGAC 1620
 GCGCTGAT GTGAGAGCT CTCTGTGCA AATGATGCGC ATGCGAGAGG TCGTGTGTTG 1680
 AATGGAGAT GGTGTGTGCA TGAAGATTT ATGGGAGAG AATCAGAGCA GCGAGAT 1740
 15 CCGAGTATG GTGTGAGCA GCGCGCTGCG GTGAGAGCGC AATGATGCTG CAGAGAGCG 1800
 TTGAGAGCG TGAGTGTGCG CAGAGATCT TTGCGCATG GTGAGAGCA CTTAGAGAA 1860
 TGTGTGTG GCGCTGATCT CTGAGAGAG GCTATGAGCG GAGAGAGCTG CTGAGAGTG 1920
 TCTCTTCCA AAGAGCTGTT TGTGAGAA GTGAGAGAG AGAGGTGCA CCGTGTGCTG 1980

GAGATAGAG TUGUGSTAG AGAGTACTT GTGTGTAGAG GGGGAGGAG GAGAGGTGT 2040
 GTGAGAGAG AGTGTGTGT GTGTGTGAG GAGAGTGA GAGTATCG GAGGTGTGAG 2100
 GTGTGTGTG AGTACTAT GTGTGTATT GTGTGTGT AGAGAGAG GAGTGTCT 2160
 GTGTGTGTG GGTGTGTGAG GTGTGTACT GTGTGTGAG GTGTGTATT GAGTGTATC 2220
 AGAGAGAGT GTGTGTAGT GTGTGTGT GTGTGTAGAG TGTGTGTG AGGTGTGAG 2280
 ATATTTTGT GAGATATGAG TTAGAGAGT GAGAGAGAG TGTGTGTGAG GTGTGTGAG 2340
 GTGTGTGTG GTGTGTGAG AGTGTGTG GTGTGTGT AGAGTGTGAG GTATGTGTG 2400
 GTGTGTGTG AGAGAGTAT GTGTGTGT GTGTGTGT GTGTGTGAG GTGTGTGAG GTGTGTG 2460
 GTGTGTGTG GTGTGTGAG GTGTGTGT GTGTGTGAG GTGTGTGT GTGTGTGTG 2520
 GTGTGTGTG GTGTGTGT GTGTGTGT GTGTGTGT GTGTGTGT GTGTGTGTG 2580
 GTGTGTGTG GTGTGTGT GTGTGTGT GTGTGTGT GTGTGTGT GTGTGTGTG 2640
 GTGTGTGTG GTGTGTGT GTGTGTGT GTGTGTGT GTGTGTGT GTGTGTGTG 2700
 GTGTGTGTG GTGTGTGT GTGTGTGT GTGTGTGT GTGTGTGT GTGTGTGTG 2760
 GTGTGTGTG GTGTGTGT GTGTGTGT GTGTGTGT GTGTGTGT GTGTGTGTG 2820
 GTGTGTGTG GTGTGTGT GTGTGTGT GTGTGTGT GTGTGTGT GTGTGTGTG 2880
 GTGTGTGTG GTGTGTGT GTGTGTGT GTGTGTGT GTGTGTGT GTGTGTGTG 2940
 GTGTGTGTG GTGTGTGT GTGTGTGT GTGTGTGT GTGTGTGT GTGTGTGTG 3000
 GTGTGTGTG GTGTGTGT GTGTGTGT GTGTGTGT GTGTGTGT GTGTGTGTG 3060

GTGTGTGTG GTGTGTGT GTGTGTGT GTGTGTGT GTGTGTGT GTGTGTGTG 3120
 GTGTGTGTG GTGTGTGT GTGTGTGT GTGTGTGT GTGTGTGT GTGTGTGTG 3180
 GTGTGTGTG GTGTGTGT GTGTGTGT GTGTGTGT GTGTGTGT GTGTGTGTG 3240
 GTGTGTGTG GTGTGTGT GTGTGTGT GTGTGTGT GTGTGTGT GTGTGTGTG 3300
 GTGTGTGTG GTGTGTGT GTGTGTGT GTGTGTGT GTGTGTGT GTGTGTGTG 3360
 GTGTGTGTG GTGTGTGT GTGTGTGT GTGTGTGT GTGTGTGT GTGTGTGTG 3420
 GTGTGTGTG GTGTGTGT GTGTGTGT GTGTGTGT GTGTGTGT GTGTGTGTG 3480
 GTGTGTGTG GTGTGTGT GTGTGTGT GTGTGTGT GTGTGTGT GTGTGTGTG 3540
 GTGTGTGTG GTGTGTGT GTGTGTGT GTGTGTGT GTGTGTGT GTGTGTGTG 3600
 GTGTGTGTG GTGTGTGT GTGTGTGT GTGTGTGT GTGTGTGT GTGTGTGTG 3660
 GTGTGTGTG GTGTGTGT GTGTGTGT GTGTGTGT GTGTGTGT GTGTGTGTG 3720
 GTGTGTGTG GTGTGTGT GTGTGTGT GTGTGTGT GTGTGTGT GTGTGTGTG 3780
 GTGTGTGTG GTGTGTGT GTGTGTGT GTGTGTGT GTGTGTGT GTGTGTGTG 3840
 GTGTGTGTG GTGTGTGT GTGTGTGT GTGTGTGT GTGTGTGT GTGTGTGTG 3900
 GTGTGTGTG GTGTGTGT GTGTGTGT GTGTGTGT GTGTGTGT GTGTGTGTG 3960
 GTGTGTGTG GTGTGTGT GTGTGTGT GTGTGTGT GTGTGTGT GTGTGTGTG 4020
 GTGTGTGTG GTGTGTGT GTGTGTGT GTGTGTGT GTGTGTGT GTGTGTGTG 4080
 GTGTGTGTG GTGTGTGT GTGTGTGT GTGTGTGT GTGTGTGT GTGTGTGTG 4140

5280 OCTATAGAAC CAKAGUCAT GBTCTCCCA ABGABANTOA TTTTCTAGAA CATACTAGAA
 5340 ANTGAGCTA CTCTCACTAGT GAGGCCACCC AGGCCCCAGG TGGABAGTPT CCGATTAAC
 5400 TATGTGCCA TTACAGAGAG TACAGCTCTTC ATGTPTACTG TGGACGAGAC CAAGACTAG
 5460 ACGAGCTGAG TGGAACTCAT ACTGCGCTGAG GAGTACTCTG TGGAGTATAT CCGCATGAG
 5520 GBTCTTGGAG AAGATGACCC TTCTCTGAGS TATCTACCA CAGCTCTGAA TGGCCCATCT
 5580 GCGCTGTGAA CAGCACTCAT CACTGACTCA GAGGCTCTGAG CAGATGTGCA CCGAGCATPT
 5640 GCGACTGTGAG AGAGTTATGT CATCTCTAC ACAGAGCGAA AGATGCGGAA AATTACAGCC
 5700 AGGCTCTGAG GAGAGCACTT GAGTATGTCT CTGAGCGACC TGGAGCTCTC CAGGAGTATC
 5760 AAGCTAGAA TTTTCTAGAA GAGAGGCCCC CAGAGAGGCT CAGACTATAC TGGCAAGTTC
 5820
 10 AAGAGAGAC TGGATTCTCC ABGAGCTTGS ACTGTACTG AGPTTCTAGC GAGAGCTGCC
 5880 CTCTTACTT GCGGACCCCC CCGGAGCTAA GTACAGCTPT ACTGTGATCT CTATGATCA
 5940 GTGGATGGA CAGTCAAGAA ACTGATGTS GBTCTAGATA CAGCTCTCTA CAGCTCTGGA
 6000 GAGCTGACC CAGTCAACCA CTAGACACC AGATCTAGAG CAGTCAATGAG GCGGCTGAGS
 6060 AGGATATTA TCTAGAGCA CTTCAGGAA ATTGAGCTC TGTATCTCTT CCGGAGAGAC
 6120 TCTCTGAG CAGTCTGAA TGGAGAGAGS ACTCTGTGCG TCTAGACAT TTATCTGAT
 6180 GGTATGAGS CTGAGGTGCT GAGATCTCT TGTGATGTA CTTCTATGAGS GBTGTGATG
 6240 ATTGTGTCT TGGAGCGAA AAGAGCGAGC GAGAGTCTCT ACGAGAGCTT GAGGATAT
 6300 GGTGTGAT TTGGGAGCG CAGGAGAGAA TTCTGTCTTS GGTGTGAGAA CTTGAGAGAA

4200 AAGAGATTC TCTCACTATC GBTGATTTA GCGTGTCTCT AGPTTCTAGS GBTGTGCTC
 4260 AGATCAACT GAGCGGAGC TGGATATGEC TATGAGCAT TTCTATCTCA GTTGAGAGAG
 4320 ATCCGAGGEC TGGAGCTTGC CAGGCTTAT AGATCTCCA TCTATGATGT GATCTCGGAG
 4380 GTCAAGAGS TGGAGGAGC CGAGAGCTC AGCTTGCTG GAGGCTGAGS GBTGTGTGAC
 4440 ATCCGAGGEC TGGAGCTTGC CAGGCTTAT AGATCTCCA TCTATGATGT GATCTCGGAG
 4500 TATAGAGAC CAGTCTCTC TCTGAGGAGC TCTAGAGCA AAGAGATTTA AATTGAGAAC
 4560 TTAACTTTT CTGATATAC TCCGAGAGC TTCACTGTCT CCGTATGAGS TACGATGAGS
 4620 ATCTTGAGAA CTTTATACHT TGAATATTT GATTCGATTA GBTGTGTGAA GACTGTGAA
 4680 TATATATCT CTGTGTCTGA AGGAGCTGEC CATATCTGAG GBTCTACCCC TATPTACTAT
 4740 TTATGTCTT ACTCTCTGAG ACTTCTCC AGCTCTGAA AACTATACCA TTCTCGCAT TATCTCTAC
 4800 GCGCAGAGAG AGGCTCTGCC CTTCTGTGAA TACTATACCA TTCTCGCAT TATCTCTAC
 4860 GBTCTTCAG TTCTCTGAT GBTATGAGS AATGCTTTS ACAGTTTCT AATPAGCTG
 4920 GTGTATCTG GBTAGCTCT GAGCGCCAG GATTCAGAC TTTCAGAGAC CAGAGAGAG
 4980 CTGAGATTA GAGCTCTAT AACTGCTATT GGTATGAGS TTATGTCTCT TGTCTCTACC
 5040 CAGGAGCTC AAGAGAGCC GTTGAAGCTT GAGTATTTA CAGAGAGCA ACGAGATTT
 5100 GAGAGCTTC TATTTGAA TGGCAGCCA GAGGTTTCT GTTCTCTGTS GAGAGCTAT
 5160 GAGGGBTCT TGTAGATTT TTCTTGTAAA ATGAGATTA CTAAGAGCA GTCTGTGCA
 5220 CTTGATATTA CTTACTTCTG CCGGAGAGCT ACGGAGAGCA TACAGATPT CAGAGAGCT
 5280 ACTUATAGS AATTTGATCT CTATGATTA AGCAGAGGAA GBTATCTCCA GAGATGAT

- 29
7. Oligonukleotid nach einem oder mehreren der Ansprüche 1 bis 6, das eine der Sequenzen SEQ ID NO. 2 bis SEQ ID NO. 20 aufweist, wobei SEQ ID NO. 2 bis SEQ ID NO. 20 folgende Bedeutung haben:

5	SEQ. ID NO. 2	3'-GGTTTGGGTGAGGTGG-5'
	SEQ. ID NO. 3	3'-GGAGGTGGTATCCCCCGG-5'
	SEQ. ID NO. 4	3'-GGTGTATCCCCCGG-5'
	SEQ. ID NO. 5	3'-GGAGTGGTATCCCC-5'
	SEQ. ID NO. 6	3'-AGAAAGCAAGGAAGAA-5'
10	SEQ. ID NO. 7	3'-GGAGTGGTATCC-5'
	SEQ. ID NO. 8	3'-GGAGCGATGGCTTCCA-5'
	SEQ. ID NO. 9	3'-AAAGACCGGGAGCG-5'
	SEQ. ID NO. 10	3'-GGTCGGTTGGGTGG-5'
	SEQ. ID NO. 11	3'-CTTACAGTCCGTGA-5'
15	SEQ. ID NO. 12	3'-GGCCGTTTCGTGT-5'
	SEQ. ID NO. 13	3'-TCACCCCTTTCTGG-5'
	SEQ. ID NO. 14	3'-GGACACCGACCGG-5'
	SEQ. ID NO. 15	3'-AACGGGACGATGG-5'
	SEQ. ID NO. 16	3'-ATCTGGGGTGTGTC-5'
20	SEQ. ID NO. 17	3'-AAAGCAAGGAAGAA-5'
	SEQ. ID NO. 18	3'-GGTGGTATCCG-5'
	SEQ. ID NO. 19	3'-CCGCGTATCTGA-5'
	SEQ. ID NO. 20	3'-CCACAGAAAGAAC-5'

8. Oligonukleotid nach einem oder mehreren der Ansprüche 1 bis 7, welches eine Sequenz ausgewählt aus der Reihe enthaltend die Sequenzen SEQ ID NO. 2 bis SEQ ID NO. 10 oder SEQ ID NO. 18 hat.

9. Oligonukleotid nach einem oder mehreren der Ansprüche 1 bis 8, welches eine der Sequenzen ausgewählt aus der Reihe der Sequenzen SEQ ID NO. 3, SEQ

- 5 10. Oligonukleotid nach einem oder mehreren der Ansprüche 1 bis 9, das die

11. Oligonukleotid nach einem oder mehreren der Ansprüche 1 bis 9, das die Sequenz SEQ ID NO. 18 hat.

12. Oligonukleotid nach einem oder mehreren der Ansprüche 1 bis 11, welches aus den natürlichen Nukleosiden Adenosin, Guanosin, Inosin, Cytidin, Uridin und Thymin aufgebaut ist und in welchem die Nukleotide über Phosphorsäureester miteinander verknüpft sind.

- 15 13. Oligonukleotid nach einem oder mehreren der Ansprüche 1 bis 12, welches

14. Oligonukleotid nach einem oder mehreren der Ansprüche 1 bis 13, welches eine oder mehrere chemische Modifikationen hat, die unabhängig voneinander ausgewählt werden können aus der Reihe der chemischen Modifikationen a) bis g), wobei

- i) den Ersatz einer Phosphorsäurediester-Brücke durch eine modifizierte Phosphorsäurediester-Brücke

- 25
- b) den Ersatz einer 3'- und/oder 5'-Phosphorsäureester-Brücke durch eine "Diphospho"-Brücke,
 - c) den Ersatz einer Zuckerphosphat-Gruppe,
 - d) den Ersatz einer 6-D-2'-Desoxyriboseinheit,

- e) die Modifikation beziehungsweise den Ersatz einer natürlichen Nucleosid-Base, f) die Konjugation mit einem Molekül, welches die Eigenschaften des Oligonukleotids an eine spezielle Anforderung anpaßt
- und

- 5 g) 3'-3'-inversion und/oder 5'-5'-inversion am 3'-beziehungswise 5'-Ende des Oligonukleotids

bedeuten

- 15 Oligonukleotid nach einem oder mehreren der Ansprüche 1 bis 14, welches eine oder mehrere chemische Modifikationen enthält, die unabhängig voneinander ausgewählt werden können aus der Reihe a) bis g).

wobei

- a) den vollständigen oder teilweisen Ersatz der Phosphorsäureester-Brücken durch Phosphorothioat-, Phosphorodithioat-, NR^1R^2 -Phosphoramidat-, Boranophosphat-, Phosphat-($\text{C}_1\text{-C}_{17}$)-O-Alkylester, Phosphat-[($\text{C}_2\text{-C}_{12}$)-Aryl-($\text{C}_1\text{-C}_{17}$)-O-Alkylester, ($\text{C}_1\text{-C}_9$)-Alkylphosphonat- und/oder ($\text{C}_6\text{-C}_{17}$)-Arylphosphonat-Brücken,

wobei

R^1 und R^2 unabhängig voneinander ausgewählt werden aus der Reihe enthaltend Wasserstoff, ($\text{C}_1\text{-C}_{10}$)-Alkyl, ($\text{C}_1\text{-C}_{10}$)-Aryl, ($\text{C}_6\text{-C}_{17}$)-Aryl-($\text{C}_1\text{-C}_9$)-alkyl und/oder

- 20 R^1 und R^2 zusammen mit dem sie tragenden Stickstoffatom einen 5-6-gliedrigen heterocyclischen Ring bilden, der zusätzlich ein weiteres Heteroatom aus der Reihe O, S, N enthalten kann,

- b) den vollständigen oder teilweisen Ersatz der 3'- und/oder 5'-Phosphorsäureester-Brücken durch "Dephospho"-Brücken, wobei die

"Dephospho-Brücken" unabhängig voneinander ausgewählt werden können aus der Reihe enthaltend Formacetal, 3'-Thioformacetal, Methylhydroxyamin, Oxim, Methylendimethylhydrazo, Dimethylsulfon und/oder Silylgruppe,

- c) den vollständigen oder teilweisen Ersatz des Zuckerphosphat-Rückgrats, durch "Morpholinonucleosid"-Oligomere und/oder durch Peptid Nucleinsäuren ("PNAs") und/oder Phosphonomoester Nucleinsäuren ("PHONAs"),

d) den vollständigen oder teilweisen Ersatz der (ß-D-2'-Desoxyriboseeinheiten, wobei die einzelnen ß-D-2'-Desoxyriboseeinheiten unabhängig voneinander ersetzt werden können durch α-D-2'-Desoxyribose, 1,2'-Desoxyribose, 2'-F-2'-

- 10 Desoxyribose, 2'-O-($\text{C}_1\text{-C}_9$)-Alkyl-Ribose, 2'-O-($\text{C}_2\text{-C}_9$)-Alkyl-Ribose 2'-O-($\text{C}_1\text{-C}_9$)-Alkyl-O-($\text{C}_1\text{-C}_9$)-Alkyl-Ribose, 2'-NH₂-2'-desoxyribose, ß-D-Xylofuranose, α-Arabinofuranose, 2,4-Dioxy-ß-D-erythro-hexo-pyranose, carbocyclische und/oder offenkettige Zuckeranaloge und/oder bicyclo-Zuckeranaloge,

e) den vollständigen oder teilweisen Ersatz der natürlichen Nucleosid-Basen durch durch Verbindungen, die unabhängig voneinander ausgewählt werden können aus der Reihe enthaltend 5-(Hydroxymethyl)uracil, 5-Aminouracil, Pseudouracil, Dihydrouracil, 5-($\text{C}_1\text{-C}_9$)-Alkyl-uracil, 5-($\text{C}_2\text{-C}_9$)-Alkyl-uracil, 5-($\text{C}_2\text{-C}_9$)-Alkyl-uracil,

- 5-($\text{C}_1\text{-C}_9$)-Alkyl-cytosin, 5-($\text{C}_2\text{-C}_9$)-Alkyl-cytosin, 5-($\text{C}_2\text{-C}_9$)-Alkyl-cytosin, 5-Fluoruracil, 5-Fluorcytosin, 5-Chloruracil, 5-Chlorcytosin, 5-Bromuracil, 5-Bromcytosin oder 7-Deaza-7-substituierte Purine,

f) die Konjugation des Oligonukleotids mit einem oder mehreren Molekülen, welche die Eigenschaften des Oligonukleotids günstig beeinflussen und/oder bei der Hybridisierung des modifizierten Oligonukleotids an die Target-Sequenz diese unter

- 25 Bindung und/oder Quervernetzung angreift, wobei die Konjugate unabhängig voneinander ausgewählt werden können aus der Reihe enthaltend Poly-L-ysin, Interkalatoren, fluoreszierende Verbindungen, Cross-Linker, lipophile Moleküle, Lipide, Steroide, Vitamine, Poly- bzw. Oligoethylglycol, ($\text{C}_{12}\text{-C}_{18}$)-Alkyl-Phosphatdiester und/oder -O-($\text{C}_2\text{-CH}_2\text{CH}(\text{OH})_2$)-O-($\text{C}_{12}\text{-C}_{18}$)-Alkyl-Gruppe,

und

- g) 3'-3'-Inversionen und/oder 5'-5'-Inversionen am 3'-beziehungswise 5'-Ende des Oligonukleotids

bedeuten

- 5 16 Oligonukleotid nach einem oder mehreren der Ansprüche 1 bis 15, wobei das Oligonukleotid mit einem oder mehreren Molekülen ausgewählt aus der Reihe Pyren, Acridin, Phenazin, Phenanthridin, Fluorescein, Pteralin, Azidoproflavin, (C₁₂-C₂₀)-Alkyl, 1,2-Di-hexadecyl-rac-glycerin, Cholesterin, Testosteron und/oder Vitamin E konjugiert ist

- 10 17 Oligonukleotid nach einem oder mehreren der Ansprüche 1 bis 16, in welchem die Phosphorsäureester-Brücken teilweise oder vollständig durch Phosphorothioat-Brücken ersetzt sind und welches gegebenenfalls mit einem oder mehreren lipophilen Molekülen, ausgewählt aus der Reihe (C₁₂-C₂₀)-Alkyl, 1,2-Di-hexadecyl-rac-glycerin, (C₁₂-C₁₉)-Alkyl-Phosphatdiestern und/oder mit -O-CH₂-CH(OH)-O-(C₁₂-C₁₉)-Alkyl, konjugiert ist

- 15 18 Oligonukleotid nach einem oder mehreren der Ansprüche 1 bis 17, in welchem alle Phosphodiester-Brücken durch Phosphorothioat-Brücken ersetzt sind (durchgängig modifiziertes Phosphothioat)

- 20 19 Oligonukleotid nach einem oder mehreren der Ansprüche 1 bis 17, in welchem ausgewählte Phosphorsäureester-Brücken durch Phosphorothioat-Brücken ersetzt sind (minimal modifiziertes Phosphothioat)

- 20 20 Oligonukleotid nach Anspruch 19, welches eine Sequenz ausgewählt aus der Reihe der Sequenzen SEQ ID NO. 21 bis SEQ ID NO. 39 hat, wobei die Sequenzen SEQ ID NO. 21 bis SEQ ID NO. 39 folgende Bedeutung haben:

- 25 21 SEQ ID NO. 21: 3'-GGGtTsTGGGTGGAGGtTsGG-5'
SEQ ID NO. 22: 3'-GGGAGGGTGGTtACcCcCcCcGg-5'

- SEQ ID NO. 23: 3'-GGGtTGGTtACcCcCcCcGgG-5'
SEQ ID NO. 24: 3'-GGGAGGTtGGGTtACcCcCcCc-5'
SEQ ID NO. 25: 3'-AGGAAAGAAcCGAAAGGGA-5'
SEQ ID NO. 26: 3'-GGGAGGTtGGGTtACcCc-5'
5 SEQ ID NO. 27: 3'-GGGAGGcGATtGGGtTsTtCcCsA-5'
SEQ ID NO. 28: 3'-GGAAGGAACGGGAGGcG-5'
SEQ ID NO. 29: 3'-GGGtTCGGTtTsTGGGTtGGG-5'
SEQ ID NO. 30: 3'-CtTsTACAGGTtCcGtTsTsGA-5'
SEQ ID NO. 31: 3'-GGGcCGGtTtTtCGCtTsGt-5'
10 SEQ ID NO. 32: 3'-TScSACcCcCcTtTsTtTsCcTsGSc-5'
SEQ ID NO. 33: 3'-GcGACACcCGACcCcGgG-5'
SEQ ID NO. 34: 3'-AaAcCcGGGAGGcGtTsG-5'
SEQ ID NO. 35: 3'-AsTtCcTGGGGTtCcGtTsC-5'
SEQ ID NO. 36: 3'-AaAAGAAcCGAAAGGGA-5'
SEQ ID NO. 37: 3'-GSGtTGGTtACcCcCc-5'
15 SEQ ID NO. 38: 3'-CcCcCGGTtACcTsGGA-5'
SEQ ID NO. 39: 3'-CcScAcAGAAAGGAaAc-5'

- 20 21. Chimäres Oligonukleotid nach einem oder mehreren der Ansprüche 1 bis 17, welches eine "Core Sequenz" und eine oder mehrere flankierende Sequenzen enthält

22. Chimäres Oligonukleotid nach Anspruch 21, welches eine der Sequenzen ausgewählt aus der Reihe der Sequenzen SEQ ID NO. 40 bis SEQ ID NO. 58 hat, wobei die Sequenzen SEQ ID NO. 40 bis SEQ ID NO. 58 folgende Bedeutung haben

- SEQ ID NO. 40: 3'-GyGyTyTyTyGxGxTxGxGAAGyGyTyG-5'
SEQ ID NO. 41: 3'-GyGyAGyGyTyGxGxTxAXcXcXcXcYcYcY-5'
30 SEQ ID NO. 42: 3'-GyGyTxGxTxAXcXcXcXcYcYcY-5'

- SEQ ID NO 43 3'-GyGyAGyGxTxGxTxAcTAAcYcYcYc-5'
 SEQ ID NO 44 3'-AyGyAxAxGxAxAxGxAxAxAyGyGyA-5'
 SEQ ID NO 45 3'-GyGyAGxGxTxGxTxAcTAAcYcYc-5'
 SEQ ID NO 46 3'-GyGyAGxGxGxAxTxGyGyTyTyCyGyA-5'
 SEQ ID NO 47 3'-AyAyAyGxAxAxGxGyGyAyGyGyG-5'
 SEQ ID NO 48 3'-GyGyTyGxGxTxTxGxGyTyTyGyG-5'
 SEQ ID NO 49 3'-CyTyTyAxCAxGxTxCAxGyTyTyGyA-5'
 SEQ ID NO 50 3'-GyGyCyGxGxTxTxTxGxGyTyTyG-5'
 SEQ ID NO 51 3'-TyCyAyCxGxTxTxTxTxTyTyTyGyG-5'
 SEQ ID NO 52 3'-GyGyAyCAxCAxGxAxAxTyTyGyG-5'
 SEQ ID NO 53 3'-AyAyCyGxGxGxAxGxGxAyTyGyG-5'
 SEQ ID NO 54 3'-AyTyTyTxCAxGxGxTxCAxGyTyG-5'
 SEQ ID NO 55 3'-AyAyAyGxAxAxGxAxAxAyGyGyA-5'
 SEQ ID NO 56 3'-GyGyTxGxTxAcTAAcYcYcYc-5'
 SEQ ID NO 57 3'-CyCAxGxGxTxCAxTyTyGyA-5'
 SEQ ID NO 58 3'-CyCAxCAxGxAxAxAyAyAyC-5'

wobei

- 20 x unabhängig voneinander für eine Phosphodiester Brücke oder eine Phosphothioat Brücke steht und
 y unabhängig voneinander für 2'-O-Methyl, 2'-O-Propyl, 2'-Methoxyethoxy oder PNA steht
 25 23 Verwendung eines Oligonukleotids nach einem oder mehreren der Ansprüche 1 bis 22 zur Hybridisierung mit Tensacin-kodierenden Nukleinsäuren.

24. Verwendung eines Oligonukleotids nach einem oder mehreren der Ansprüche 1 bis 23 zur Hybridisierung mit Nukleinsäuren, die die Sequenz SEQ ID NO 1 gemäß Tabelle 1 oder Teile dieser Sequenz aufweisen
 5 25. Verwendung eines Oligonukleotids nach einem oder mehreren der Ansprüche 1 bis 24 zur Inhibition der Expression von Tensacin.
 10 26. Verwendung eines Oligonukleotids nach einem oder mehreren der Ansprüche 1 bis 25 als Antisense Oligonukleotid.
 27. Verwendung eines Oligonukleotids nach einem oder mehreren der Ansprüche 1 bis 26 zur Herstellung eines Arzneimittels, das zur Behandlung von Krankheiten, die mit einer Überexpression von Tensacin einhergehen, verwendet werden kann.
 15 28. Verwendung eines Oligonukleotids nach einem oder mehreren der Ansprüche 1 bis 27 zur Herstellung eines Arzneimittels, das zur Behandlung von Depigmentierungskrankheiten verwendet werden kann.
 20 29. Verwendung eines Oligonukleotids nach einem oder mehreren der Ansprüche 1 bis 28 zur Herstellung eines Arzneimittels zur Behandlung von Albinismus und/oder Psoriasis.
 25 30. Verwendung eines Oligonukleotids nach einem oder mehreren der Ansprüche 1 bis 28 zur Herstellung eines Arzneimittels zur Behandlung von Vitiligo.
 31. Verwendung eines Arzneimittels nach Anspruch 30 in Kombination mit Photochemotherapie und/oder der Transplantation von kultivierten Melanocyten und/oder der Behandlung mit Steroiden und/oder der Behandlung mit Plazenta-Extrakten.

32 Verwendung eines Oligonukleotids nach einem oder mehreren der Ansprüche 1 bis 27 zur Herstellung eines Arzneimittels zur Behandlung von Krebs.

33 Verwendung eines Oligonukleotids nach einem oder mehreren der Ansprüche 1 bis 27 zur Herstellung eines Arzneimittels zur Behandlung von Melanomen.

34 Verwendung eines Oligonukleotids nach einem oder mehreren der Ansprüche 1 bis 27 zur Herstellung eines Arzneimittels zur Behandlung von Entzündungen.

35 Verwendung eines Arzneimittels nach einem oder mehreren der Ansprüche 1 bis 27 zur Behandlung und/oder Prävention von kardiovaskulären Erkrankungen.

36 Arzneimittel enthaltend eines oder mehrere verschiedene Oligonukleotide nach einem oder mehreren der Ansprüche 1 bis 22 sowie gegebenenfalls einen oder mehrere pharmazeutische Träger- und/oder Zusatzstoffe.

37 Verfahren zur Herstellung eines Arzneimittels nach Anspruch 36, dadurch gekennzeichnet, daß eine wirksame Dosis eines oder mehrerer Oligonukleotide mit einem oder mehreren pharmazeutischen Träger- und/oder Zusatzstoffen gemischt wird

38 Verfahren zur Herstellung eines Oligonukleotids gemäß einem oder mehreren der Ansprüche 1 bis 22 wobei die Oligonukleotide chemisch an einer Festphase synthetisiert werden

Zusammenfassung

Antisense Oligonukleotide gegen Tenascin zur Behandlung von Villig

5 Die Erfindung betrifft spezifische, gegebenenfalls modifizierte Oligonukleotide mit einer Länge von bis zu 18 Nukleotiden, die Abschnitten Tenascin-kodierender Sequenzen entsprechenden bzw. die an diese Sequenzen binden können, deren Herstellung sowie die Verwendung derselben, beispielsweise zur spezifischen Inhibition der Expression von Tenascin und zur Herstellung von Arzneimitteln, die zur Behandlung von Villig

10 von Villig verwendet werden können.